

## 한국인 자궁내막증 환자에서 p53 유전자 codon 72 다형성 양상

\*서울대학교 의과대학 산부인과학교실, <sup>†</sup>의학연구원 인구의학연구소, <sup>‡</sup>병리학교실,  
<sup>§</sup>대전율지대의 산부인과학교실, <sup>||</sup>연세대학교 의과대학 산부인과학교실  
강경화<sup>§</sup> · 최영민<sup>\*†</sup> · 이병석<sup>||</sup> · 강순범<sup>\*</sup> · 장은란<sup>\*</sup> · 배상규<sup>\*</sup> · 박인애<sup>‡</sup>  
전종관<sup>\*</sup> · 지병철<sup>\*</sup> · 구승엽<sup>\*</sup> · 서창석<sup>\*†</sup> · 김석현<sup>\*†</sup> · 김정구<sup>\*</sup> · 문신용<sup>\*†</sup>

=ABSTRACT=

### p53 Codon 72 Polymorphism in Patients with Endometriosis

Kyoung Hwa Kang, M.D.<sup>§</sup>, Young Min Choi, M.D.<sup>\*†</sup>, Byung Soek Lee, M.D.<sup>||</sup>,  
Soon Beom Kang, M.D.<sup>\*</sup>, Eun Ran Chang, B.S.<sup>\*</sup>, Sang Kyu Bae, B.S.<sup>\*</sup>,  
In Ae Park, M.D.<sup>‡</sup>, Jong Kwan Jun, M.D.<sup>\*</sup>, Byung Chul Jee, M.D.<sup>\*</sup>,  
Seung Yup Ku, M.D.<sup>\*†</sup>, Chang Suk Suh, M.D.<sup>\*†</sup>, Seok Hyun Kim, M.D.<sup>\*†</sup>,  
Jung Gu Kim, M.D.<sup>\*</sup>, Shin Yong Moon, M.D.<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, <sup>†</sup>Institute of Reproductive Medicine and Population,

<sup>‡</sup>Medical Research Center, Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine,

<sup>§</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Eulji University College of Medicine,

<sup>||</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University College of Medicine

**Objective :** To explore the association of p53 codon 72 polymorphism with endometriosis.

**Methods :** Two hundred seventy-one women with surgically or histologically diagnosed endometriosis of stage I-IV, and 219 patients with no evidence of endometriosis by laparoscopy or laparotomy served as control. Allele frequencies and genotype distribution of p53 polymorphisms (arginine homozygosity, heterozygosity, and proline homozygosity) in affected women and controls were evaluated.

**Results :** The genotype distributions of p53 codon 72 polymorphisms did not differ significantly between endometriosis group and control group ( $p=0.086$ ). However, the genotype distributions of p53 codon 72 polymorphisms differ significantly between stage I-II endometriosis group and control group ( $p=0.043$ ). Proline homozygotes had higher risk for stage I-II endometriosis compared to arginine homozygotes (odds ratio=2.75,  $p=0.013$ ).

**Conclusion :** These results suggest that proline homozygote of p53 codon 72 polymorphism is associated with the risk of minimal or mild stage of endometriosis in the Korean population.

**Key Words :** Endometriosis, p53, Polymorphism, Proline, Arginine

자궁내막증은 자궁내막조직이 자궁강 밖에 존재하는 질환으로 생리통, 골반통, 성교통 및 불임과 같은 여러 부인과적 문제를 유발한다. 자궁내막증은 매우 흔한 부인과 질환이나, 그 원인과 병태생리에 대해서는 아직 명

확하지는 않다.

최근에는 자궁내막증이 환경적 요인과 여러 유전자들 간의 상호작용에 의한 다인자성 복합 유전질환이라는 증거들이 축적되고 있다.<sup>1</sup> 자궁내막증에 대한 분자생물

접수일 : 2004. 5. 17.

주관책임자 : 최영민

\* 본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (01-PJ10-PG6-01GN13-0002).

\* This study was supported by a grant of the Korea Health 21 R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (01-PJ10-PG6-01GN13-0002).

학적 연구가 활발히 이루어지면서 염색체 변이와 종양 억제 유전자가 자궁내막증의 발생에 영향을 줄 가능성도 제시되고 있다. Jiang 등은 종양 억제 유전자의 불활성화가 자궁내막증의 발생에 영향을 줄 수도 있다고 보고하였다.<sup>2</sup> 종양 억제 유전자인 p53는 종양 유전자에 의한 세포 변형의 예방에 중요한 역할을 하고 있다. 보통 여러 종양에서 p53 유전자의 변이가 많이 발견되고 있어 p53 유전자는 복합적인 기전에 의해 증식 억제 효과를 갖는다고 할 수 있다.

여러 종양이 p53 다형성과 연관되어 있다고 보고되고 있는데, 자궁경부암,<sup>3,5</sup> 폐암,<sup>6,7</sup> 식도암,<sup>8</sup> 구강암,<sup>9,10</sup> 비인두암,<sup>11</sup> 전립선암,<sup>12</sup> 유방암,<sup>13</sup> 간암<sup>14</sup> 등과의 연관성이 보고되고 있다.

자궁내막증과 p53 다형성의 연관성에 관한 연구는 매우 적어 현재까지 3개의 연구만이 발표되었다.<sup>15-17</sup> 그러나 연구 결과들이 서로 상이하여 현재로서는 다른 연구 보고들이 필요한 실정이다.

이에 본 연구자들은 한국인 여성에서 p53 유전자 다형성과 자궁내막증 발생의 연관성 여부를 규명하고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

복강경술 또는 개복술을 시행하여 자궁내막증으로 진단된 환자 271명을 환자군으로 정하였다. 그리고 대조군으로는 복강경술 또는 개복술 상 자궁내막증의 증거를 발견할 수 없었던 219명의 여성을 대상으로 하였다. 검사 및 시술 1년 이내에 GnRH agonist, danazol 및 성호르몬 등 자궁내막증의 진단에 영향을 미칠 수 있는 치료를 받지 않은 여성만을 대상으로 하였다. 그리고 대조군의 경우 자궁근증, 자궁선증 및 자궁경부암과 난소암 등 악성 종양인 경우는 포함시키지 않았다. 자궁내막증 병기는 revised American Fertility Society 분류를 이용하여 평가하였다.<sup>17</sup> 대상 자궁내막증 환자들의 연령은 18-53세 범위였고, 평균  $34.2 \pm 6.8$  (S.D.)세였다. 대조군 환자들의 연령은 16-53세 범위였고, 평균  $34.9 \pm 9.3$ 세였다.

### 2. 내용

대상 환자들에서 p53 유전자의 codon 72에 존재하는 다형성인 arginine과 proline 각각에 대한 특이 PCR 방법을 사용하여 p53 다형성을 조사하였다. 그리고 자궁내막증 환자군과 대조군 사이에 p53 다형성의 차이 여부를 조사하였다.

### 3. 방법

#### 1) 중합효소연쇄반응 (PCR)

대상 환자에서 말초혈액을 채혈하여 Wizard DNA extraction kit (Promega)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다.

PCR 반응 용액은 0.1  $\mu$ g의 genomic DNA와 1.5 mM  $MgCl_2$ , 해당 primer 0.4  $\mu$ M, 각 dNTP 0.2 mM, Taq polymerase 1.25 unit를 포함하였다. PCR에 사용한 primer는 arginine의 경우 upstream으로서 5'TCC CCC TTG CCG TCC CAA3', downstream으로서 5'CTG GTG CAG GGG CCA CGC3'였으며, proline의 경우 upstream으로서 5'GCC AGA GGC TGC TCC CCC 3', downstream으로서 5' CGT GCA AGT CAC AGA CTT3'였다. 그 증폭 크기는 arginine의 경우 141 bp, proline의 경우 177 bp였다. Proline 대립유전자는 Pro, arginine 대립유전자는 Arg로 표시하였다.

PCR 반응시 94°C에서 1분간 denaturation 시행 후, 94°C에서 30초, 60°C (arginine) 또는 50°C (proline)에서 30초, 72°C에서 30초씩 25 cycle을 시행하고, 72°C에서 10분간 extension 시켰다.

증폭된 PCR 산물을 2% agarose gel에서 전기영동을 시행한 후 ethidium bromide로 염색한 후 UV illumination 하에서 증폭 산물을 관찰하였다.

#### 2) 통계 분석

통계적 분석은 자궁내막증과 대조군 사이의 p53 유전자형 (genotype)과 대립유전자 (allele)의 빈도에 대하여 chi square 검사를 시행하였고  $p < 0.05$ 인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

p53 다형성으로서 Arg/Arg, Arg/Pro, Pro/Pro 유전자형의 빈도는 자궁내막증 환자군은 각각 38.0%, 47.2%, 14.8%, 대조군은 각각 44.3%, 47.0%, 8.7%로 양군 사이에 유의한 차이는 아니나 경계적 유의성을 보였다 ( $p=0.086$ , Table 1). 반면 자궁내막증 환자군을 stage I-II군과 stage III-IV군으로 세분하였을 때, stage I-II 자궁내막증군에서 Arg/Arg, Arg/Pro, Pro/Pro 유전자형의 빈도는 각각 35.1%, 45.9%, 18.9%로서 대조군과 유의한 차이를 보였다 ( $p=0.043$ , Table 1). 그러나 stage III-IV 자궁내막증군은 대조군과 p53 유전자형의 빈도에서 차이가 없었다.

Pro/Pro 유전자형의 경우 Arg/Arg 유전자형과 비교시 자궁내막증 발생 위험도가 1.98로 유의하게 증가하였으며 (Table 2), 특히 stage I-II 자궁내막증 발생 위험도는 2.75로 유의하게 더욱 증가하였다 (Table 3).

Table 1. Distribution of p53 codon 72 polymorphisms in women with endometriosis and without endometriosis

|               | Genotypes |             |             |            |          | Alleles |             |             |          |
|---------------|-----------|-------------|-------------|------------|----------|---------|-------------|-------------|----------|
|               | Total     | Arg/Arg     | Arg/Pro     | Pro/Pro    | P value* | Total   | A           | P           | P value* |
| Endometriosis | 271       | 103 (38.0%) | 128 (47.2%) | 40 (14.8%) | 0.086    | 542     | 334 (61.6%) | 208 (38.4%) | 0.044    |
| Stage I-II    | 74        | 26 (35.1%)  | 34 (45.9%)  | 14 (18.9%) | 0.043    | 148     | 86 (58.1%)  | 62 (41.9%)  | 0.032    |
| Stage III-IV  | 197       | 77 (39.1%)  | 94 (47.7%)  | 26 (13.2%) | 0.267    | 394     | 248 (62.9%) | 146 (37.1%) | 0.141    |
| Control       | 219       | 97 (44.3%)  | 103 (47.0%) | 19 (8.7%)  |          | 438     | 297 (67.8%) | 141 (32.2%) |          |

\*(vs control)

Table 2. Risk of endometriosis by p53 codon 72 genotypes

| Status             | Endometriosis (n=271) | Control (n=219) | Odd ratio (95% CI) | P value |
|--------------------|-----------------------|-----------------|--------------------|---------|
| Arg/Arg            | 103 (38.0%)           | 97 (44.3%)      | 1.0                |         |
| Arg/Pro or Pro/Pro | 168 (62.0%)           | 122 (55.7%)     | 1.30 (0.90-1.86)   | 0.159   |
| Arg/Pro            | 128 (47.2%)           | 103 (47.0%)     | 1.17 (0.80-1.71)   | 0.417   |
| Pro/Pro            | 40 (14.8%)            | 19 (8.7%)       | 1.98 (1.01-3.66)   | 0.027   |

Table 3. Risk of stage I-II endometriosis by p53 codon 72 genotypes

| Status             | Endometriosis (n=74) | Control (n=219) | Odd ratio (95% CI) | P value |
|--------------------|----------------------|-----------------|--------------------|---------|
| Arg/Arg            | 26 (35.1%)           | 97 (44.3%)      | 1.0                |         |
| Arg/Pro or Pro/Pro | 48 (64.9%)           | 122 (55.7%)     | 1.47 (0.85-2.54)   | 0.168   |
| Arg/Pro            | 34 (45.9%)           | 103 (47.0%)     | 1.23 (0.69-2.20)   | 0.482   |
| Pro/Pro            | 14 (18.9%)           | 19 (8.7%)       | 2.75 (1.22-6.21)   | 0.013   |

## 고 찰

자궁내막증과 p53 다형성의 연관성에 관하여는 현재까지 3개의 연구가 보고되어 있다. 2002년 Chang 등은 대만인을 대상으로 한 연구에서 p53 다형성이 자궁내막증 발생과 연관성이 있다고 처음으로 보고하였다.<sup>15</sup> 이후 2002년 허 등은 한국인을 대상으로 한 연구에서 p53 다형성이 자궁내막증 발생과 연관성이 없다고 보고하였다.<sup>16</sup> 그리고 2004년 Omori 등은 일본인을 대상으로 한 연구에서 p53 다형성이 자궁내막증 발생과 연관성이 없다고 보고하였다.<sup>16</sup>

본 연구에서 p53 다형성은 stage I-II인 경증의 자궁내막증 발생과 연관성이 있었다. 이러한 본 연구 결과는 이전 첫 보고인 Chang 등<sup>15</sup>의 연구 결과와 차이점을 나타내고 있다. Chang 등<sup>15</sup>도 p53 다형성이 자궁내막증 발생과 연관이 있다고 보고하였으나, 이들은 중증(moderate to severe)의 자궁내막증 환자들(118명)만을 대상으로 하였다. 반면 본 연구에서는 중증의 자궁내막증 발생은 p53 다형성과 연관성이 없었으며, 경증의 자궁내막증 발생만이 p53 다형성과 연관성이 있었다. 이러한 차이점을 단지 대만인과 한국인이라는 인종적 차이만으

로는 설명하기는 어렵다. 그러나 대조군의 p53 유전자 다형성을 보면 Chang 등<sup>15</sup>의 연구에서는 Arg/Arg, Arg/Pro, Pro/Pro 유전자형의 분포가 각각 30.7%, 50.0%, 19.3%이고, 본 연구에서는 각각 44.3%, 47.0%, 8.7%로서 상호간에 유의한 ( $p=0.003$ ) 차이를 보이고 있다. 그러므로 향후 p53 다형성과 자궁내막증 발생의 연관성에 관한 다른 외국 연구, 특히 아시아 인종을 대상으로 한 연구들이 필요하다.

한국인을 대상으로 한 이전 연구인 허 등<sup>16</sup>의 연구도 중증의 자궁내막증 환자들(74명)만을 대상으로 한 연구이므로, 이들의 연구 결과는 본 연구 결과와 부합한다. 그러므로 한국인에서 p53 다형성은 중증의 자궁내막증 발생과는 연관성이 없다고 판단된다. 그리고 본 연구 결과는 많은 수의 중증 자궁내막증 환자들(197명)을 대상으로 하였다는 점에서 그 결과의 신빙성이 높다고 하겠다. 그리고 일본인을 대상으로 한 2004년 Omori 등<sup>17</sup>의 연구도 대상의 대부분(111명 중 107명)이 중증의 자궁내막증 환자들이었으므로 이들의 연구 결과도 본 연구 결과와 부합된다고 할 수 있다.

본 연구에서 중증이 아닌 경증의 자궁내막증 발생만이 p53 유전자 다형성과 연관성이 있다는 결과는 현재로

서는 설명하기가 쉽지 않다. 그러므로 향후 다른 연구들, 특히 경증 자궁내막증 환자들을 대상으로 한 연구들에 의하여 본 연구의 결론은 검증되어야 할 것이다. 경한 자궁내막증과 중한 자궁내막증이 상호 다른 임상 양상과 병태 생리학적 소견을 보일 수 있다는 점은<sup>19-22</sup> 경한 자궁내막증이 발생하는 환자의 유전자형은 중한 자궁내막증이 발생하는 환자의 유전자형과 다를 가능성을 암시한다. 이러한 가능성은 자궁내막증 환자군에서 N-acetyltransferase 2 (NAT-2) 유전자 다형성을 조사한 1999년 Baranova 등<sup>23</sup>의 연구에서도 제시된 바 있다. 이들 연구자들은 불란서인들을 대상으로 한 연구에서, 경한 자궁내막증 환자군 (36명)만이 대조군과 NAT-2 유전자 다형성이 유의한 차이를 보였으며, 중한 자궁내막증 환자군 (72명)의 경우 유의한 차이가 없다고 보고하였다.

본 연구 결과, 한국 여성에서 p53 유전자의 codon 72 다형성은 경한 자궁내막증 발생과 연관이 있는 것으로 사료된다.

- 참고문헌 -

1. Zondervan KT, Cardon LR, Kennedy SH. The genetic basis of endometriosis. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001; 13: 309-14.
2. Jiang X, Hitchcock A, Bryan EJ, Watson RH, Englefield P, Thomas EJ, et al. Microsatellite analysis of endometriosis reveals loss of heterozygosity at candidate ovarian tumor suppressor gene loci. *J Cancer Res* 1996; 56: 3534-9.
3. Adam NR, Andy R, Rajai MA, Alan S, Catherine AH, Ian JJ. P53 codon 72 polymorphism and risk of cervical cancer in UK. *Lancet* 1998; 352: 871-5.
4. Baek WK, Cho JW, Suh SI, Suh MH, Shin DH, Cho CH, et al. p53 codon 72 polymorphism and risk of cervical carcinoma in Korean women. *J Korean Med Sci* 2000; 5: 65-7.
5. Kim JW, Roh JW, Park NH, Song YS, Kang SB, Lee HP. Polymorphism of TP53 codon 72 and the risk of cervical cancer among Korean women. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 55-8.
6. Wang YC, Lee HS, Chen SK, Chang YY, Chen CY. Prognostic significance of p53 codon 72 polymorphism in lung carcinomas. *European J Cancer* 1999; 35: 226-30.
7. Biros E, Kalina I, Biros I, Kohut A, Bogyiova E, Stubna J. Polymorphism of the p53 within the codon 72 in lung cancer patients. *Neoplasma* 2001; 48: 407-11.
8. Zhang JH, Li Y, Wang R, Wen DG, Wu ML, He M. p53 Gene polymorphism with susceptibility to esophageal cancer and lung cancer in Chinese population. *Zhonghua Zhong Lu Za Zhi* 2003; 25: 365-7.
9. Drummond SN, De Marco L, Pordeus Ide A, Barbosa AA, Gomez RS. TP53 codon 72 polymorphism in oral squamous cell carcinoma 2002; 22: 3379-81.
10. Kietthubthwe S, Sriplung H, Au WW, Ishida T. The p53 codon 72 polymorphism and risk of oral cancer in Southern Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 2003; 4: 209-14.
11. Tiwawech D, Srivatanakul P, Karaluk A, Ishida T. The p53 codon 72 polymorphism in Thia nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Lett* 2003; 198(1): 69-75.
12. Suzuki K, Matsui H, Ohtake N, Nakata S, Takei T, Nakazato H, et al. A p53 codon 72 polymorphism associated with prostate cancer development and progression in Japanese. *J Biomed Sci* 2003; 10: 43-5.
13. Buyru N, Tigli H, Dalay N. p53 codon 72 polymorphism in breast cancer. *Oncol rep* 2003; 10: 711-4.
14. Yu MW, Yang SY, Chiu YH, Chian YC, Liaw YF, Chen CJ. A p53 genetic polymorphism as a modulator of hepatocellular carcinoma risk in relation to chronic liver disease, familial tendency and cigarette smoking in hepatitis B carriers. *Hepatology* 1999; 29: 697-702.
15. Chang CC, Hsieh YY, Tsai FJ, Tsai CH, Tsai HD, Lin CC. The proline form of p53 codon 72 polymorphism is associated with endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 77: 43-5.
16. 허성은, 심성신, 이경순, 문혜성, 유한기, 정혜원. p53 codon 72 다형성과 한국인 여성의 자궁내막증의 연관성에 관한 연구. *대한불임학회지* 2002; 29: 311-5.
17. Omori S, Yoshida S, Kennedy SH, Negoro K, Hamana S, Barlow DH, Maruo T. Polymorphism at codon 72 of the p53 gene is not associated with endometriosis in a Japanese population. *J Soc Gynecol Investigation* 2004; 11: 232-6.
18. American Fertility Society. Revised American Fertility Society classification of endometriosis: 1985. *Fertil Steril* 1985; 43: 351-2.
19. Thornton JG, Morley S, Lilleyman J, et al. The relationship between laparoscopic disease, pelvic pain and infertility; an unbiased assessment. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997; 74: 57-62.
20. Arici A, Tazuke S, Attar E, et al. Interleukin-8 concentration in peritoneal fluid of patients with endometriosis and modulation of interleukin-8 expression in human mesothelial cells. *Mol Hum Reprod* 1996; 2: 40-5.
21. Shifren JL, Tseng JF, Zaloudek CJ, et al. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and the pathogenesis of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3112-8.
22. Nisolle M, Donnez J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril* 1997; 68: 585-96.
23. Baranova H, Canis M, Ivaschenko T, Albuissou E, Bothorishvili R, Baranov V, Malet P, Bruhat MA. Possible involvement of arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1 genes in the development of endometriosis. *Mol Hum Reprod* 1999; 5: 636-41.

=국문초록=

**목적 :** p53 다형성과 자궁내막증과의 연관성을 파악하고자 하였다.

**연구 방법 :** 복강경술 또는 개복술로 자궁내막증으로 진단된 환자 271명과 복강경술 또는 개복술에서 자궁내막증이 없는 것으로 확인된 대조군 219명을 대상으로 하여 p53 유전자 codon 72 다형성을 조사하였다.

**결과 :** p53 유전자 codon 72 다형성의 유전자형 분포는 자궁내막증 환자군과 대조군 사이에 유의한 차이는 없었다 ( $p=0.086$ ). 반면 stage I-II인 경한 자궁내막증군에서 p53 유전자 codon 72 유전자형 분포는 대조군과 유의한 차이를 보였다 ( $p=0.043$ ). 그러나 stage III-IV 자궁내막증군은 대조군과 p53 codon 72 유전자형의 분포에서 차이가 없었다. Pro/Pro 유전자형의 경우 Arg/Arg 유전자형과 비교시 stage I-II 자궁내막증 발생 위험도가 2.75로 유의하게 증가하였다.

**결론 :** 한국 여성에서 p53유전자의 codon 72 다형성은 경증의 자궁내막증 발생과 연관이 있었다.

**중심단어 :** 자궁내막증, p53 유전자, 다형성